第 36 卷 第 3 期
1993 年 8 月

昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

Vol. 36, No. 3
Aug., 1993

昆虫肠道蛋白酶作用下 δ-内毒素的毒性肽及毒力特异性的变化*

李荣森 盛竹莓

(中国科学院武汉病毒研究所，武汉 430071)

摘要 本文报道杀斜纹夜蛾 (*Prodenia litura*) δ-内毒素和杀鞘翅目昆虫 δ-内毒素经昆虫肠液蛋白酶及胰蛋白酶作用后，其毒性肽及毒力特异性的变化。以 Sephadex G75 柱层析提纯的 130kD 原毒素，经斜纹夜蛾幼虫肠液蛋白酶作用后，产生的 70kD 与 75kD 抗蛋白酶多肽 (PRP) 对斜纹夜蛾和家蚕皆有毒；经家蚕幼虫肠液蛋白酶作用后，产生的 62kD 与 65kD 的 PRP 失去对斜纹夜蛾的毒性，仅对家蚕有毒；经胰蛋白酶作用后产生的 65kD 与 68kD 的 PRP，其毒力特性与经家蚕肠液蛋白酶作用后的相似。斜纹夜蛾肠液蛋白酶作用后产生的 PRP，可进一步被家蚕肠液蛋白酶或胰蛋白酶降解为 63—65kD 的 PRP，此种多肽对斜纹夜蛾无毒，对家蚕有毒。杀鞘翅目昆虫的原毒素不能为胰蛋白酶和粘虫肠液所完全降解。证明不同种类昆虫的肠道蛋白酶对 δ-内毒素蛋白质的作用位点不同，δ-内毒素对宿主昆虫的毒力特异性与其肠道蛋白酶的特性密切相关。

关键词 苏云金芽孢杆菌 δ-内毒素 毒性多肽 鞘翅目

苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*) 产生的不同种类的 δ-内毒素对昆虫表现出不同的毒性，其毒性肽的分子量及氨基末端的氨基酸残基也不相同 (Fast, 1981；李荣森等，1989；Lecadet 等，1967；Chestukhina 等，1986)。迄今，有关 δ-内毒素蛋白质经不同昆虫肠道蛋白酶作用后，毒性肽及其毒力特异性的变化，仅有个别报道 (Haider 等，1986)。为了解昆虫对 δ-内毒素敏感或不敏感的机制，本研究以昆虫肠液及胰蛋白酶作用杀斜纹夜蛾 (*Prodenia litura*) δ-内毒素和杀鞘翅目昆虫 δ-内毒素，分析了毒性肽及其毒力特异性的变化。

材 料 与 方 法

(一) 菌株与昆虫

苏云金芽孢杆菌菌株：YH-8A (李荣森等，1990)、AO-64、AO-50 (*Bacillus thuringiensis var. aizwai*)，对斜纹夜蛾有效，AO-64 及 AO-50 由日本鲇泽启夫教授惠赠；YM-03 及 H3-03，对鞘翅目昆虫有效，对鳞翅目和双翅目昆虫无效(李荣森等，1990)。

供试昆虫：家蚕 (*Bombyx mori*)、斜纹夜蛾 (*Prodania litura*) 及粘虫 (*Mythimna separata*)。

(二) 细菌培养与伴孢晶体的提纯

各菌株于肉汤蛋白胨液体培养基中，30℃ 振荡培养直至完全成熟，按略加改进的 Pendleton 等(1966)的双相法提纯伴孢晶体。

本文于 1990 年11月收到。
* 戴顺英同志在微生物学和动物免疫工作方面给予了帮助，特此致谢。

（三）原毒素的制备

按 Huber 等（1981）将提纯的伴孢晶体悬浮于含 10mmol/L 二硫苏糖醇的 0.05 mol/L Na_2CO_3-HCl（pH 9.5）缓冲液中，37℃作用 60 分钟，以 TGL 16-B 离心机 5000 rpm 离心 10 分钟，收集含原毒素的上清液。蛋白质含量以 UV-300 型分光光度计 280 nm 紫外吸收法测定，国产小牛血清清蛋白为标准。

（四）昆虫肠液的制备及蛋白酶酶活测定

取家蚕、斜纹夜蛾及粘虫的 5 龄幼虫，轻压头部收集反吐液，或剖开肠道吸取肠液，以 RS-20III 型离心机 5000rpm 4℃离心 30 分钟，取上清液置 −20℃冰箱保存备用。

参照 Tojo 等(1983)方法进行酶活力测定。酶活力的 1 个单位（U）规定为在指定条件下每隔 2 分钟的 OD_{280} 值增加数。

（五）原毒素的体外酶激活

1. 单种蛋白酶激活：胰蛋白酶激活按李荣森等(1989)方法进行，所得抗蛋白酶多肽供层析和电泳分析。原毒素溶液加家蚕或粘虫肠液抽提物（5:1，*V/V*），原毒素溶液加斜纹夜蛾肠液（3:1，*V/V*），37℃温育 60 分钟，以 4m mol/L 的 PMSF（$C_6H_5CH_2SO_2F$）终止酶反应。

2. 两种蛋白酶二步激活：(1)原毒素溶液先经斜纹夜蛾肠液 37℃作用 60 分钟，再加家蚕肠液 37℃作用 60 分钟，以 PMSF 终止酶反应。(2) 经家蚕肠液和斜纹夜蛾肠液先后作用。(3)先经家蚕或斜纹夜蛾肠液作用，再加胰蛋白酶。(4)先经胰蛋白酶作用，再分别以家蚕或斜纹夜蛾肠液作用。

（六）原毒素和毒性肽的纯化

原毒素和经昆虫肠液作用后产生的毒性肽以 Sephadex G75（Pharmacia）1 × 30 cm 凝胶柱层析纯化。以 0.05mol/L Na_2CO_3-$NaHCO_3$，pH9.5 缓冲液平衡凝胶柱和洗脱样品，流速 34ml/小时，每管 2ml，每峰收集 10ml，置透析袋中，用聚乙二醇浓缩，浓缩样品用于电泳分析和毒力测定。

（七）聚丙烯酰胺凝胶电泳分析

参照 Laemmli（1970）和 Li 等（1987）方法进行 δ-内毒素、原毒素及毒性肽的 SDS-PAGE 分析。每种样品取约 20μg 蛋白质，并按 Weber 等(1969)方法测定分子量。

（八）毒力测定

以 2 龄家蚕、斜纹夜蛾幼虫为试虫，将一定浓度的 δ-内毒素悬液或毒性肽溶液按二倍稀释法作成 6 个浓度，每取 0.5ml 涂布叶片两面，每一浓度幼虫 25 头，25℃ 48 小时，求得 LC_{50} 值。

（九）抗血清制备及双相免疫扩散试验

提纯的伴孢晶体溶于 0.015mol/L NaOH（25℃ 4 小时），晶体蛋白质溶液以 10m mol/L 磷酸钠缓冲液（pH 7.0）透析过夜。以此种原毒素溶液免疫家兔，免疫全过程用抗原蛋白质 10mg/只，先以福氏完全佐剂（Difco）抗原皮下注射 3 次，再以不加福氏佐剂的抗原耳静脉注射 2 次，7天后心脏采血。血液置 4℃冰箱中至大量血清析出，血清置 56℃水浴中 30 分钟，然后分装，测定效价，−20℃保存。双向免疫扩散试验按常规

方法（张龙翔，1981）进行，琼脂糖凝胶 1%（W/V），样孔孔径 3mm，加样后 25℃ 温培 48 小时。

结　　果

（一）伴孢晶体的提纯和原毒素蛋白质成分

三种杀斜纹夜蛾的伴孢晶体纯度为 99.0%，二种杀鞘翅目昆虫的伴孢晶体纯度为

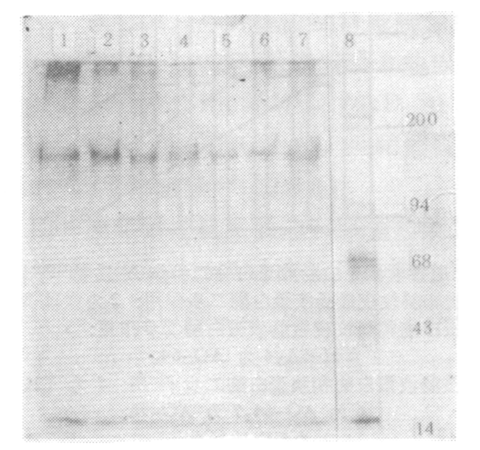


图 1　三种杀斜纹夜盗蛾伴孢晶体蛋白质及原毒素的 SDS-PAGE 图型

晶体蛋白质：1、7 为 YH-8A，2 为 AO-64，3 为 AO-50。

原毒素：4 为 YH-8A，5 为 AO-64，6 为 AO-50。

8 为蛋白质标准（$\times10^3$Da）。

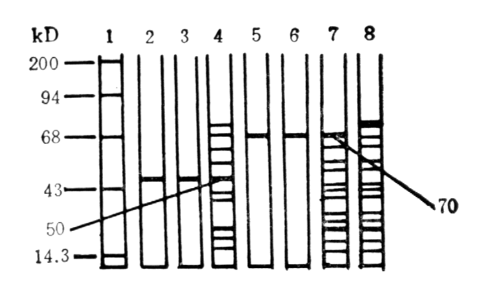


图 2　二种杀鞘翅目 δ-内毒素的原毒素及抗蛋白酶多肽的 SDS-PAGE 图型

原毒素：3 为 H3-03，5 为 YM-03。

抗胰蛋白酶多肽：2 为 H3-03，6 为 YM-03。

抗粘虫肠液蛋白酶多肽：4 为 H3-03，7 为 YM-03。

8 为粘虫肠液粗提蛋白酶，1 为蛋白质标准。

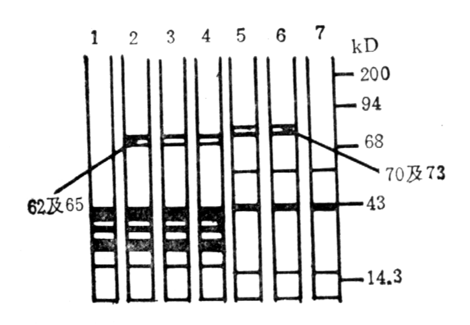


图 3　杀斜纹夜蛾原毒素经昆虫肠液蛋白酶作用后的抗酶多肽（PRP）

抗家蚕肠液蛋白酶 PRP：2 为 YH-8A，3 AO-64，4 为 AO-50。

抗斜纹夜蛾肠液蛋白酶 PRP：5 为 YH-8A，6 为 AO-50。

1 为家蚕肠液蛋白酶（粗），7 为斜纹夜蛾肠液蛋白酶（粗）。

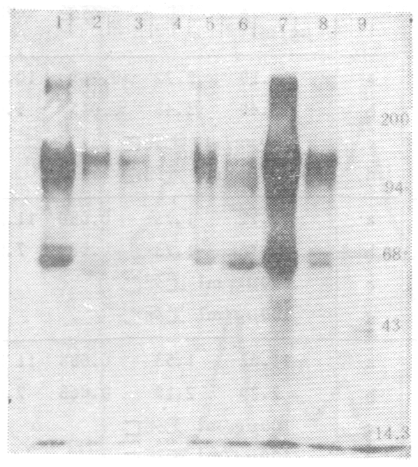


图 4　Sephadex G75 纯化后的原毒素经蛋白酶作用后的 PRP

经胰蛋白酶作用：1 为 YH-8A，6 为 AO-64，7 为 AO-50。

经胰蛋白酶和家蚕肠道蛋白酶作用：2 为 YH-8A，3 为 AO-64，4 为 AO-50。

经斜纹夜蛾肠道酶和胰酶作用：5 为 YH-8A，8 为 AO-64。

9 为蛋白质标准。

98.0%。前者的原毒素其 SDS-PAGE 图型与原始伴孢晶体的蛋白质图型相同(图 1),与已有的研究结果 (Bulla 等,1977;Chestukhina 等,1980)相同。杀鞘翅目菌株 H3-03 和

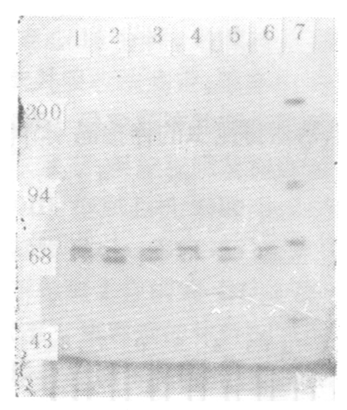


图 5 Sephadex G75 纯化的原毒素经昆虫肠液蛋白酶作用后的 PRP
经家蚕肠液蛋白酶作用: 1 为 YH-8A, 2 为 AO-64,3 为 AO-50。
经斜纹夜蛾肠液和家蚕肠液蛋白酶二步作用: 4 为 YH-A, 5 为 AO-64,6 为 AO-50。
7 为蛋白质标准。

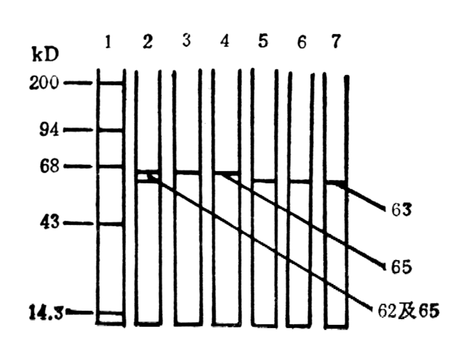


图 6 原毒素经昆虫肠液蛋白酶二步作用后的 PRP
经家蚕和斜纹夜蛾肠液蛋白酶二步作用: 2 为 YH-8A。
经胰蛋白酶和斜纹夜蛾肠液蛋白酶二步作用: 3 为 YH-8A,4 为 AO-64。
经家蚕肠液蛋白酶和胰蛋白酶二步作用: 5 为 YH-8A, 6 为 AO-64,7 为 AO-50。
1 为蛋白质标准。

表1 5 种 δ-内毒素及其抗蛋白酶多肽对斜纹夜蛾与家蚕2龄幼虫的毒力*

菌株	制剂	斜纹夜蛾 LC_{50} μg/ml	斜度	标准差	95%置信限	家蚕 LC_{50} μg/ml	斜度	标准差	95%置信限
YH-8A	a	10.10	2.22	0.069	10.24—9.97	0.11	μg/ml	100%死亡	
	b	5.40	3.48	0.045	5.43—5.31	2.65	1.89	0.082	2.81—2.49
	c	100μg/ml 无死亡				0.45	1.75	0.074	2.59—0.31
	d	100μg/ml 无死亡				2.96	2.21	0.066	3.09—2.33
AO-50	a	11.12	1.73	0.080	11.28—10.96	0.11	μg/ml	100%死亡	
	b	7.36	1.73	0.080	7.52—7.21	2.97	2.20	0.064	3.10—2.85
	c	100μg/ml 无死亡				0.33	1.45	0.093	0.51—0.15
	d	100μg/ml 无死亡				2.85	1.67	0.082	3.01—2.69
AO-64	a	11.62	1.53	0.088	11.79—11.45	0.11	μg/ml	100%死亡	
	b	7.29	2.19	0.068	7.42—7.16	4.58	2.27	0.063	4.70—4.46
	c	100μg/ml 无死亡				0.55	1.92	0.073	0.69—0.41
	d	100μg/ml 无死亡				2.46	1.84	0.076	2.61—2.31
YM-03	a	400μg/ml 无死亡				200μg/ml 无死亡			
	d	400μg/ml 无死亡				200μg/ml 无死亡			
H3-03	a	400μg/ml 无死亡				200μg/ml 无死亡			
	d	400μg/ml 无死亡				200μg/ml 无死亡			

* a: δ-内毒素 b: 抗斜纹夜蛾肠液蛋白酶多肽 c. 抗家蚕肠液蛋白酶多肽 d. 抗胰蛋白酶多肽。本表为三次试验结果。

YM-03 的原毒素分别为 50kD 和 70kD 的蛋白质(图 2)。

（二）昆虫肠液蛋白组分的凝胶电泳分析及酶活性

SDS-PAGE 分析表明，家蚕(以下称 B) 肠液含小于 43kD 的四种蛋白组分(图 3)，斜纹夜蛾(以下称 P) 肠液含小于 50kD 的二种主要组分(图 3)，粘虫(以下称 L) 肠液含约 72kD 的主要组分及其它多种较小组分(图 2)。B、P、L 肠液及胰蛋白酶的酶活力分别为 0.035U/ml、0.026U/ml、0.030U/ml 及 0.78U/ml。

（三）原毒素经单种昆虫肠液或胰蛋白酶作用后的毒性多肽

杀鳞翅目的 130kD 原毒素经 B 幼虫肠液作用，降解为 62kD 和 65kD 的多肽(图 3)；经 P 幼虫肠液作用，降解为 70kD 和 73kD 的多肽(图 3)；经胰蛋白酶作用，降解为 65kD 和 68kD 的多肽(图 4)。杀鞘翅目的 70kD 和 50kD 的原毒素不能被胰蛋白酶或 L 幼虫肠液完全降解(图 2)。

（四）原毒素经昆虫肠液和胰蛋白酶二步作用后的毒性多肽

130kD 原毒素经 B 肠液与 P 肠液先后作用，终产物为 62kD 及 65kD 的抗酶多肽；经 B 肠液和胰蛋白酶二步作用，产生 63kD 的抗酶多肽(图 6)；经 P 和 B 肠液先后作用，

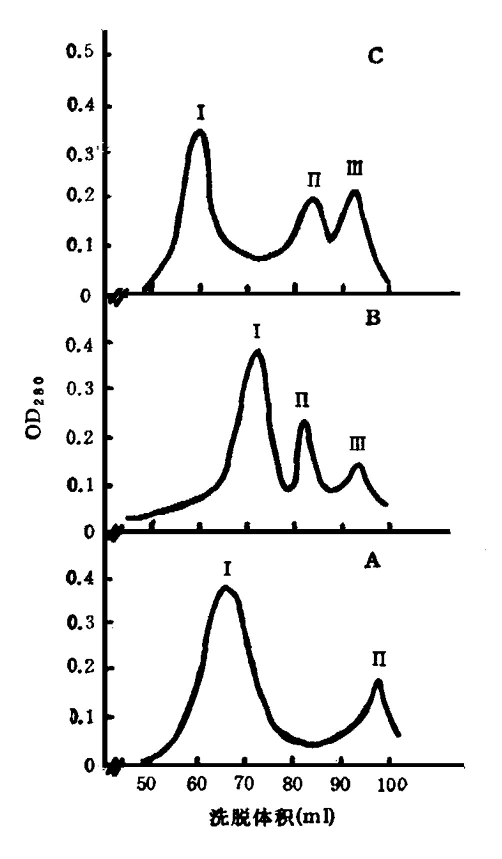
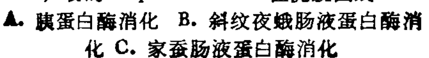


图 7　YH-8A 原毒素经单种蛋白酶作用后终产物的 Sephadex G75 柱洗脱曲线
A. 胰蛋白酶消化　B. 斜纹夜蛾肠液蛋白酶消化　C. 家蚕肠液蛋白酶消化



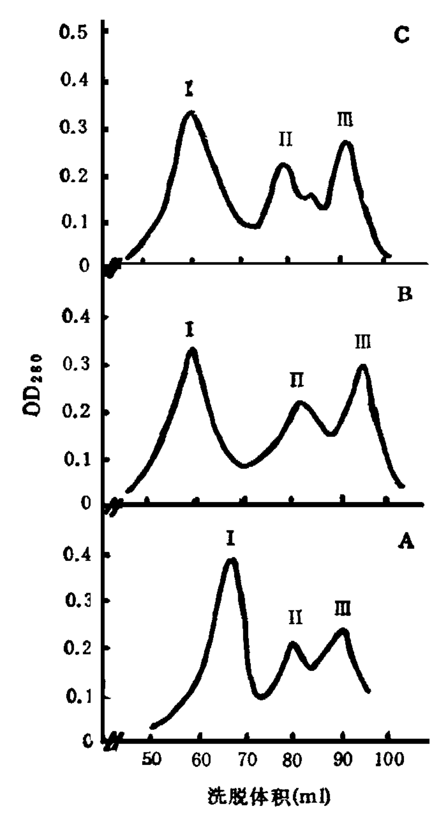


图 8　YH-8A 原毒素经二种蛋白酶二步作用后产物的 Sephadex G75 柱洗脱曲线
A. 以斜纹夜蛾肠液蛋白酶和胰蛋白酶二步消化
B. 以胰蛋白酶和家蚕肠液蛋白酶二步消化 C. 以斜纹夜蛾肠液和家蚕肠液蛋白酶二步消化

产生 63kD 及 65kD 的抗酶多肽(图 5);经 P 肠液和胰蛋白酶二步作用,产生 65kD 和 68kD 的多肽(图 4);胰蛋白酶和 B 肠液作用,得 62kD 及 65kD 的多肽(图 4); 胰蛋白酶和 P 肠液作用,得 65kD 的多肽(图 6)。说明家蚕肠液蛋白酶的性质与胰蛋白酶近似,而与斜纹夜蛾肠液蛋白酶不同。

(五) 抗蛋白酶多肽的分离纯化

1. 单种肠液或胰蛋白酶产生的 PRP 的分离纯化　图 7 显示,130kD 原毒素经 B 肠液作用后的产物有三个洗脱峰,仅峰 I (含 62 及 65kD 毒性肽)对 B 幼虫有毒; 经 P 肠液作用后的产物亦有三个洗脱峰,峰 I (含 70 及 73kD 毒性肽)对 B 和 P 幼虫均有毒;经胰蛋白酶作用后的产物有二个洗脱峰,峰 I (含 65 及 68kD 毒性肽)对 B 有毒对 P 无毒。

2. 昆虫肠液与胰蛋白酶二步作用后的 PRP 的分离纯化　图 8 表明,130kD 原毒素经 P 肠液和 B 肠液先后作用,经 P 肠液和胰蛋白酶先后作用,或经胰蛋白酶和 B 肠液先后作用,皆有 3 个洗脱峰,仅峰 I 对 B 有毒,但对 P 无毒。

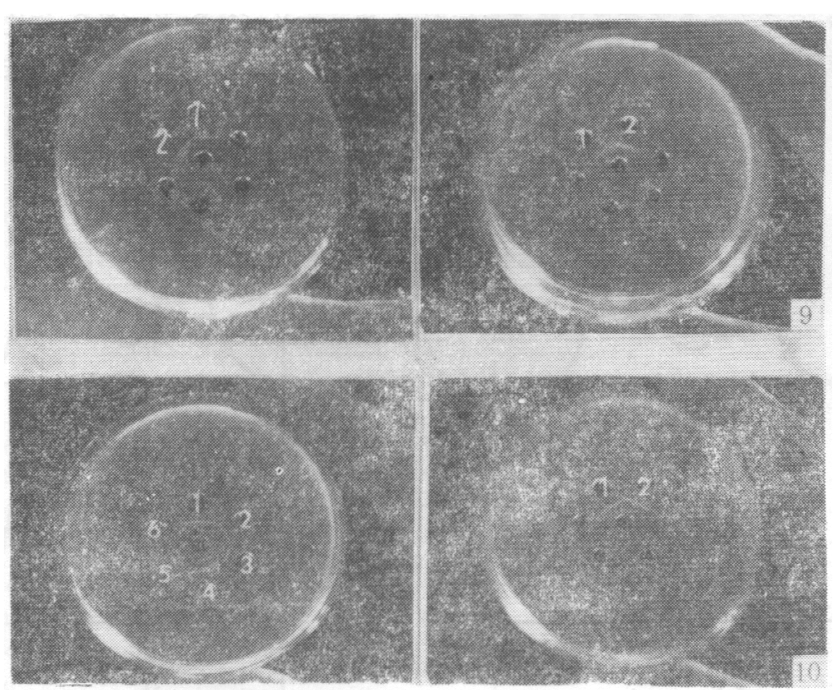


图 9　双向免疫扩散反应: 晶体蛋白质抗血清与原毒素反应
A: 中央孔为 YH-8A 晶体蛋白质的抗血清,1 为 YH-8A 原毒素,2 为 AO-50 原毒素。
B: 中央孔为 YH-8A 晶体蛋白质的抗血清,1 为 AO-64 抗斜纹夜蛾肠液蛋白酶 PRP,2 为 AO-64 原毒素。

图 10　双向免疫扩散反应: 晶体蛋白质抗血清与抗蛋白酶多肽反应
A: 中央孔为 YH-8A 晶体蛋白质的抗血清,1 为 YH-8A 抗胰酶 PRP,2 为 YH-8A 抗斜纹夜蛾肠蛋白酶 PRP,3 为 YH-8A 抗家蚕肠蛋白酶 PRP,4 为 AO-50 抗斜纹夜蛾肠蛋白 PRP,5 为斜纹夜蛾肠液蛋白酶(粗提),6 为家蚕肠液蛋白酶(粗提)。
B: 中央孔为 YH-8A 晶体蛋白质的抗血清,1 为 AO-64 抗胰酶 PRP,2 为 AO-64 抗家蚕肠蛋白酶 PRP。

(六) δ 内毒素和毒性肽的毒力

表 1 结果表明,三种提纯的 δ-内毒素对斜纹夜蛾幼虫均有较高毒力,对家蚕毒力很

高。家蚕肠液作用后产生的毒性肽对家蚕的毒力远高于斜纹夜蛾肠液或胰蛋白酶作用后产生的毒性肽，对斜纹夜蛾则无毒。斜纹夜蛾肠液产生的毒性肽毒力特性与家蚕肠液产生的明显不同。杀鞘翅目 δ 内毒素及其抗胰蛋白酶多肽，对家蚕与斜纹夜蛾均无毒性。

130kD 原毒素经昆虫肠液和胰蛋白酶二步作用后产生的抗酶多肽（所用浓度同表 1 中的 LC_{50}）对昆虫的毒力试验结果证明，家蚕肠液或胰蛋白酶无论首先或第二步作用，最终产生的抗蛋白酶多肽皆失去对斜纹夜蛾幼虫的毒力，而保留了对家蚕幼虫的毒力。

（七）原毒素及毒性肽的抗原分析

以提纯的杀斜纹夜蛾 δ 内毒素免疫家兔，所得抗血清的效价：YH-8A 为 1024，AO-50 为 2048，AO-64 为 1024。双向免疫扩散试验结果表明，碱溶的杀斜纹夜蛾晶体蛋白质的抗血清与原毒素反应产生二条沉淀线（图 9），与抗蛋白酶的毒性肽反应皆产生 1 条沉淀线(图 10A 和 10B)。结果提示，此种 130kD 原毒素经两种昆虫肠液蛋白酶或胰蛋白酶作用后，所产生的毒性多肽失去一个抗原，三种杀斜纹夜蛾的 δ 内毒素的抗原相同。

讨　　论

到目前为止，已描述了多种性质不同的 δ 内毒素蛋白质，如 130kD 杀鳞翅目 δ 内毒素(P_1)，对鳞翅目及双翅目都有效的 65kD、135kD δ 内毒素（Chestukhina 等，1980；Yamamoto 等，1981)，以色列变种等菌株的杀蚊 δ 内毒素（Ibarra 和 Federici, 1986)，以及杀鞘翅目的 δ 内毒素（Krieg 等，1983；Herrnstadt 等，1986)。它们对不同种类昆虫显示不同的毒力特性，不仅因其化学结构相异，也与宿主昆虫肠道蛋白酶的性质和作用密切相关。本研究结果表明，家蚕肠液蛋白酶或胰蛋白酶无论单独作用或是继斜纹夜蛾肠液蛋白酶第二步作用，最终产生的多肽皆只对家蚕有毒，而对斜纹夜蛾无毒。斜纹夜蛾肠液蛋白酶的性质和作用位点不同于家蚕肠液蛋白酶和胰蛋白酶。粗略推算，抗斜纹夜蛾肠液蛋白酶的 70—75kD 的多肽，去掉 5kD 的小肽(约 50 个氨基酸残基)就失去了对斜纹夜蛾的毒性，但去掉 8kD 的小肽(约 80 个氨基酸残基)，对家蚕的毒性仍然保持。

杀鞘翅目的 δ 内毒素，其形态、原毒素及抗蛋白酶多肽的特性皆明显不同于杀鳞翅目的 δ 内毒素。对于此种 δ 内毒素经昆虫肠液蛋白酶作用后，其毒性肽及毒力特性的变化尚需进一步研究。

参　考　文　献

李荣森等　1989　苏云金芽孢杆菌伴孢晶体的蛋白质和抗蛋白酶多肽及其毒力特性。微生物学报 **29**(6)：397—404。

李荣森等　1990　我国部分地区土壤中的苏云金芽孢杆菌和球形芽孢杆菌。微生物学报 **30**(5)：380—8。

张龙翔编著　1981　生物化学实验技术和方法。科学出版社第 310—313页。

Bulla, L. A. et al. 1977 Characterization of the entomocidal parasporal crystal of *Bacillus thuringiensis*. *J. Bacteriol*. **130**(1): 375—83.

Chestukhina, G. G. et al. 1980 Crystal-forming proteins of *Bacillus thuringiensis*. The limited hydrolysis by endogeneous proteinases as a cause of their apparent multiplicity. *Biochem. J.* 187(2): 457—65.

Chestukhina, G. G. et al. 1986 The main features of *Bacillus thuringiensis* δ-endotoxin molecular structure. *Arch. Microbiol*. **132**(1): 159—62.

Chestukhina, G. G. et al. 1986 Amino acid sequences from the N-terminal domain of *Bacillus thuringiensis subsp. alesti* δ-endotoxin. *FEBS Letters* **198**(2): 283—6.

Fast, P. G. 1981 The crystal toxin of *Bacillus thuringiensis*. in "Microbiol Control of Pest and Plant Disease 1970—1980" H. D. Burges (ed), Academic Press, pp. 223—248.

Haider, M. Z. et al. 1986 Specificity of *Bacillus thuringiensis var. colmeri* insecticidal δ-endotoxin is determined by differential proteolytic processing of the protoxin by larval gut proteases. *Eur. J. Biochem.* 156(3): 531—40.

Herrnstadt, C. et al. 1986 A new strain of *Bacillus thuringiensis* with activity against coleopteran insects. *Bio/Technology* 4: 305—8.

Huber, H. E. et al. 1981 The subunits of the parasporal crystal of *Bacillus thuringiensis*: Size, linkage and toxicity. *Arch. Microbiol.* 129: 14—8.

Ibarra, J. E. & B. A. Federici 1986 Parasporal bodies of *Bacillus thuringiensis subsp. morrisoni* (PG-14) and *Bacillus thuringiensis subsp. israelensis* are similar in protein composition and toxicity. *FEMS Microbiol. Letters* 34(1): 79—84.

Krieg, A. et al. 1983 *Bacillus thuringiensis var. tenebrionis*: ein neuer gegenuber larven von Coleopteren wirksamer. *Pathotyp. Z. Ang. Ent.* 96: 500—8.

Laemmli, U. K. 1970 Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bactriophage T_4. *Nature* 227(5259): 680—5.

Lecadet, M. M. et al. 1967 The enzymic hydrolysis of *Bacillus thuringiensis* Berliner crystals, and the liberation of toxic fractions of bacterial origin by the chle of *Pieris brassicae*. *J. Invertebr. Pathal.* 7(1): 105—8.

Li, Rong-sen et al. 1987 Importance of spores, crystals and endotoxins in the pathogenicity of different varieties of *Bacillus thuringiensis* in *Galleria mellonella* and *Pieris brassicae*. *J. Invertebr. Pathol.* 50(3): 277—84.

Pendleton, I. R. et al. 1966 Separation of the spores and crystals of *Bacillus thuringiensis*. *Nature* 212(5063): 728—9.

Tojo, A. et al. 1983 Dissolution and degradation of *Bacillus thuringiensis* by gut juice protease of the silkworm *Bombyx mori*. *Appl. Envir. Microbiol.* 45(2): 576—80.

Weber, K. et al. 1969 The reliability of molecular weight determination by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem* 244(16): 4406—12.

Yamamoto, T. et al. 1981 Isolation of a protein from the parasporal crystal of *Bacillus thuringiensis var. kurstaki* toxic to the mosquito larva, *Aedes taeniorhynchus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 103(2): 414—21.

HOST SPECIFICITY OF *BACILLUS THURINGIENSIS* δ-ENDOTOXIN PROTEOLYSED BY PROTEASES OF LARVAL GUT JUICE

Li Rong-sen　Sheng Zhu-mei

(*Wuhan Institute of Virology, Academia Sinica, Wuhan* 430071)

Noctuids-sensitive parasporal crystals were dissolved and protoxins were activated with trypsin or gut juice of larva of *Prodenia litura* and *Bombyx mori*. Toxic polypeptide produced by digestion of *B. mori* gut juice or trypsin was toxic only to *B. mori*, whereas toxic polypeptide produced by gut juice of *P. litura* was toxic to both *P. litura* and *B. mori*. Coleoptera-sensitive δ-endotoxins of 70 kD and 50kD could not be degraded completely by trypsin or gut juice of *Mythimna separata*.

SDS-PAGE and chromatography showed that the 130 kD protoxin was degraded to *P. litura*-specific toxins of 70 kD and 75 kD by *P. litura* gut juice, *B. mori*-specific toxins of 62 kD and 65 kD by *B. mori* gut juice and *B. mori*-specific toxins of 65 kD and 68 kD by trypsin. When *P. litura*-specific polypeptides of 70—75 kD were subsequently treated with *B. mori* gut juice, the resulting polypeptides of 62—64 kD were no longer toxic to *P. litura* but acquired *B. mori* toxicity. Reversely, protoxin treated first with *B. mori* gut juice or trypsin and then with *P. litura* gut juice, resulting 62—65 kD polypeptides were toxic only to *B. mori*. It was shown that the action of proteases of *B. mori* gut juice was similar to trypsin but different from proteases of *P. litura* gut juice.

Key words　*Bacillus thuringiensis*——δ-endotoxin——toxic polypetide——Coleoptera